

DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES OVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO* COM SEMEN FRESCO E CONGELADO USANDO O MÉTODO DE SELEÇÃO ESPERMÁTICA MINI PERCOLL

Janaína F. da Silva¹; Diego P. Viegas², Elisangela M. Madeira³, Felipe Campos⁴, Karoliny Lagos⁵, Edson F. Silva⁶, Joao A. A. Rincón⁷, Lígia M. C. Pegoraro⁸

¹Estudante do curso de Graduação em Medicina Veterinária, UFPel, bolsista de iniciação científica do CNPq/Embrapa. E-mail: nanafadrique@yahoo.com.br;

² Laboratório de Reprodução Animal Embrapa Clima Temperado;

³ Doutoranda Curso Pós Graduação em Medicina Veterinária UFPel bolsista CAPES;

^{4,7} Mestrando Curso Pós Graduação em Medicina Veterinária UFPel bolsista CAPES;

^{5,6} Estagiários Laboratório de Reprodução Animal Embrapa Clima Temperado;

⁸ Med. Veterinária, Doutora, pesquisadora Laboratório de Reprodução Animal Embrapa Clima Temperado.

A seleção espermática influencia diretamente a produção *in vitro* de embriões. Nesta etapa ocorrem importantes eventos como a capacitação dos espermatozoides tornando-os aptos a fecundar os ovócitos, e a recuperação de um maior número de espermatozoides viáveis. Uma técnica desenvolvida com essa finalidade é o gradiente descontínuo de densidade Mini Percoll. O objetivo deste estudo foi comparar a utilização do gradiente de seleção espermática Mini percoll em sêmen ovino fresco (MPF) e congelado (MPC) no desenvolvimento de embriões ovinos produzidos *in vitro*. A viabilidade foi comparada quanto aos critérios de clivagem (D2) e desenvolvimento embrionário (blastocistos/nº de ovócitos inseminados) em D8 de cultivo. Complexos cumulus-oócitos (CCOs) foram aspirados de ovários de ovelhas oriundas de abatedouro, selecionados e destinados a maturação por 22-24 h. Após a maturação os CCOs foram divididos aleatoriamente entre os tratamentos, MPF(n=54) e MPC(n=49) inseminados com 1×10^6 sptz/mL, e mantidos 18hs em meio de fecundação. A FIV foi realizada utilizando sêmen ovino fresco e congelado submetidos ao gradiente Mini Percoll. Este gradiente foi preparado nas concentrações de 90% e 45%. Com a colocação da alíquota de sêmen, o gradiente foi centrifugado duas vezes a 700G por 5 min em meio FIV. Os prováveis zigotos foram cultivados durante 8 dias em meio SOFaa adicionado de BSA e, acondicionados em bags com atmosfera de 3 gases (5% CO₂, 5% O₂ e 90% N₂). As taxas de clivagem foram de 48% (MPF) e 14% (MPC), e de desenvolvimento embrionário obtido foram 13% (MPF) e 14,29%(MPC). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos nas taxas de desenvolvimento embrionário. Os resultados sugerem que a metodologia de preparação espermática utilizada é adequada a seleção do sêmen fresco e congelado. Maiores estudos com um número maior de ovócitos estão sendo realizados para confirmar estes resultados preliminares.

Agradecimento: CNPq/Embrapa; Frigorífico Famile.